

PATENT ABSTRACTS OF JAPAN

(11)Publication number : 57-169481

(43)Date of publication of application : 19.10.1982

(51)Int.Cl. C07D471/04 // A61K 31/435
A61K 31/435 A61K 31/435

(21)Application number : 56-056155

(71)Applicant : OTSUKA PHARMACEUT CO LTD

(22)Date of filing : 13.04.1981

(72)Inventor : ICHIHARA TERUYOSHI
NISHIDA TSUTOMU
KATO AKIRA
TAKANO MASAAKI
KAMOTO TAKASHI

(54) BETA-CARBOLINE DERIVATIVE

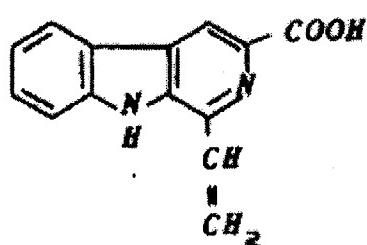
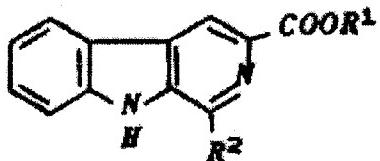
(57)Abstract:

NEW MATERIAL:A derivative of formula I(R1 is H, lower alkyl; R2 is vinyl, ethyl) and its salt.

I EXAMPLE: 1-Vinyl-3-carboxy- β -carboline.

USE: Antibacterial, anticancer and anti-inflammatory.

PREPARATION: A bacteria producing β -carboline derivative in Nocardiopsis, e.g., Nocardiopsis dassonvillei OFR 1063 (FERM-5909) is cultured at 12W46, preferably 28W37° C and 4.0W9.5, preferably 6.2W7.5pH.



対応なし、英抄

⑨ 日本国特許庁 (JP)

⑩ 特許出願公開

⑪ 公開特許公報 (A)

昭57-169481

⑫ Int. Cl.³
C 07 D 471/04
// A 61 K 31/435

識別記号
102
ABE
ADU
ADZ

厅内整理番号
6736-4C

⑬ 公開 昭和57年(1982)10月19日
発明の数 1
審査請求 未請求

(全 14 頁)

⑭ β-カルボリン誘導体

⑮ 願 昭56-56155

⑯ 出願 昭56(1981)4月13日

⑰ 発明者 市原照由
鳴門市大津町矢倉字六ノ越7-
25

⑰ 発明者 西田勉
鳴門市大津町木津野養父の内11
-5

⑰ 発明者 加藤顯

徳島市川内町加賀須野463-10

⑰ 発明者 高野雅明

徳島市川内町加賀須野463-10

⑰ 発明者 鴨頭峻

徳島市中吉野町1丁目67-1

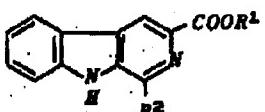
⑰ 出願人 大塚製薬株式会社

東京都千代田区神田司町2丁目
9番地

⑰ 代理人 弁理士 三枝英二 外2名

明細書

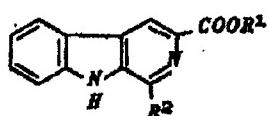
発明の名称 β-カルボリン誘導体



(I)

特許請求の範囲

① 一般式



[式中、R¹は水素原子又は低級アルキル基を、R²はビニル基又はエチル基を示す。]

で表わされるβ-カルボリン誘導体及びその塩。

発明の詳細な説明

本発明はβ-カルボリン誘導体及びその塩に関する。

本発明のβ-カルボリン誘導体及びその塩は新規な化合物であり、下記一般式(I)で表わされる。

[式中、R¹は水素原子又は低級アルキル基を、R²はビニル基又はエチル基を示す。]

本発明の上記一般式(I)で表わされるβ-カルボリン誘導体及びその塩は抗菌作用、抗ガン作用及び抗炎症作用を有し、抗菌剤、抗ガン剤及び抗炎症剤の有効成分として有用であり、また之等有効成分の製造用中間体としても使用できる。

上記一般式(I)中、R¹で示される低級アルキル基としては例えばメチル、エチル、プロピル、イソプロピル、ブチル、*tert*-ブチル、ベンチル、ヘキシル基等を挙げることができる。

本発明のβ-カルボリン誘導体の代表的化合物

特開昭57-169481(2)

を以下に示す。

- 1 - ビニル - 3 - カルボキシ - β - カルボリソ
- 1 - ビニル - 3 - メトキシカルボニル - β - カルボリソ
- 1 - ビニル - 3 - エトキシカルボニル - β - カルボリソ
- 1 - ビニル - 3 - プロポキシカルボニル - β - カルボリソ
- 1 - ビニル - 3 - *tert* - プロトキシカルボニル - β - カルボリソ
- 1 - ビニル - 3 - ヘキシカルボキシカルボニル - β - カルボリソ
- 1 - エチル - 3 - カルボキシ - β - カルボリソ
- 1 - エチル - 3 - メトキシカルボニル - β - カルボリソ

- 1 - エチル - 3 - エトキシカルボニル - β - カルボリソ
- 1 - エチル - 3 - イソプロポキシカルボニル - β - カルボリソ
- 1 - エチル - 3 - ブロトキシカルボニル - β - カルボリソ
- 1 - エチル - 3 - パンチルオキシカルボニル - β - カルボリソ
- 1 - エチル - 3 - ヘキシルオキシカルボニル - β - カルボリソ

本発明の β - カルボリソ誘導体は、その置換基の種類に応じて各種の方法により製造できる。例えば一般式(1)中 R^1 が水素原子を、 R^2 がビニル基を示す化合物は、ノカルジオブシス (*Nocardiosis*) 属に属する β - カルボリソ誘

導体生産菌を利用して製造することができる。上記 β - カルボリソ誘導体生産菌としては、ノカルジオブシス属に属する公知の微生物及び本発明者ら [沖縄県西表島より]

が新たに分離した微生物を例示できる。後者の微生物はノカルジオブシス ダルモンベイ (*Nocardiosis darcennvillei*) OFR1063 の名称で工業技術院微生物工業技術研究所に微生物保管委託申請受理番号第5909号として委託されている。以下この委託した OFR1063 株について詳述する。

〔形態学的特徴〕

気菌糸は長く伸長し適度に分枝している。その形態は直線状ないしは曲線上であり又それらがジグザグ状になる場合もみられる。基生菌糸はよく発達し不規則に分枝し培地の種類によつてはかな

り断片化する場合がある。胞子は気菌糸が粗に分断後さらに細かく分断し形成される。胞子の大きさは不規則であり胞子の形状は長椭円形ないし円筒形でありその表面は平滑型である。

〔各培地における生育状態〕

本菌株の各種代表的培地に於ける生育状態を第1表に示す。いずれも 28℃ 21 日間の培養による調査結果であり、色調の記載は「カラーハーモニーマニュアル (Color Harmony Manual 第4版, 1958年; Container Corporation of America)」の表示法に従つた。

第一表

培地	生育状態	気菌糸	基生菌糸 (裏面)	基生菌糸 (裏面)	可溶性色素
イースト・ 麦芽天培 地	良好 しわが よる。	温度、粉状、木 ワイト (white, a.)	シナモン (cinnamon 31°C)	褐色	
オートミー ル天培地	良好	温度、ビロード 状、ホワイト (white, a.)	ライト・ウイー ト (light white, 20°C)	なじ なじ	
ペナント・ イースト・ 麦芽天培地	温度~ 食酵	温度~ 食酵	ライト・ウイート (light white, 20°C)	なじ なじ	

培地	生育 状態	気菌糸	基生菌糸	基生菌糸 (裏面)	可溶性色素
ショクロー ス・硝酸塩 天培地	温度	温度、粉状、木 ワイト (white, a.)	ハニー・ゴール ド (honey gold, 21°C)	ハニー・ゴール ド (honey gold, 21°C)	パンプー (pump kin, 21°C)
グリコース ・アスパラ ギン天培 地	温度	温度、粉状、木 ワイト (white, a.)	ライト・アイボ リー (light ivory, 20°C)	ライト・ウイー ト (light wheat, 20°C)	なじ なじ
グリセリン ・アスパラ ギン天培 地	温度	温度~量育、粉 状~ビロード状、 ホワイト (white, a.)	ハニー・ゴール ド (honey gold, 21°C)	ハニー・ゴール ド (honey gold, 21°C)	緑黄色

(生理的性質)

1 生育温度範囲

12~46°C (至適生育温度範囲 34~37°C)

2 生育pH範囲

pH 4.0~9.5 (至適生育pH 範囲 pH 6.2~7.7)

3 ゼラチンの液化 (グルコース・ペプトンゼラ
チン培地上)

陽性 (弱い)

4 スターチの加水分解 (スターチ・無機塩天
培地上)

陽性 (弱い)

5 脱脂牛乳の凝固・ペプトン化

凝固: 陽性 ペプトン化: 陽性弱い)

6 メラニン様色素の生成

陰性 (ペプトン・イースト・麦芽天培地、テ

培地	生育 状態	気菌糸	基生菌糸 (裏面)	基生菌糸 (裏面)	可溶性色素
スターク 天培地	温度	温度、粉状、木 ワイト (white, a.)	ライト・ウイート (light white, 20°C) →ハニー・ゴールド (honey gold, 21°C)	ライト・ウイート (light white, 20°C)	緑黄色
チロジン 天培地	良好	量育、粉状 ビロード状ホワ イト (white, a.)	シナモン (cinnamon 31°C)	シナモン (cinnamon 31°C)	パンプー (pump kin, 21°C)
米糠天培 地	温度~ 食酵	温度	ライト・アイボ リー (light ivory, 20°C)	クリーム (cream, 13°C)	なじ なじ

第2表

- ロシン等天培地及びトリフットン・イーストエキス培地)
- 7 磷酸塩の還元
陽性(強い)
- 8 セルロースの分解
陰性
- 9 炭素源の同化性(ブリドハム・ゴトリーブ等天培地上)
下記第2表に示す。但し同化性の評価は、下記による。

++ : よく同化する

± : 同化が緩しい

炭素源	同化性
L-アラビノース	++
D-キシロース	++
D-グルコース	++
D-フラクトース	++
シュクロース	++
イノシトール	++
L-ラムノース	±
ラフィノース	++
D-マンニット	++

10 細胞壁タイプと全菌体の糖組成

細胞壁組成：ジアミノビメリン酸はメリ体が検出され、アミノ酸についてはクリシンは検出されなかつた。又糖は

ガラクトースは検出されたがアラビノースは検出されなかつた。

全菌体の糖組成：ガラクトースは検出されたがアラビノース、キシロース及びマヌロースは検出されなかつた。

上記の菌学的性質を有する本菌の分類学上の位置を以下に論ずる。

本菌の細胞壁と全菌体の分析結果は、ガラクトースが存在することからレシエバリエらの分類(*M.P. Lechevalier and H. Lechevalier, International Journal of Systematic Bacteriology, 第20巻, 435~443頁, 1970年*)のどのタイプにもあてはまらない。しかしながら、糖の存在については、レシエバリエは彼の分類でタイプⅢ-Bに属すアクチノマチュラ・マデュラ

(*Actinomaduras madurae*)が本来はガラクトーしないにもかかわらず、ガラクトースを有ス及びアラビノースを有するものがあると報告している(*H.P. Lechevalier, Journal of Laboratory and Clinical Medicine, 第71, 934~944頁, 1968年*)ことから、本菌においてもガラクトースの存在だけが認められたが、ガラクトースとアラビノースの両方が存在しないタイプあるいはその両方が存在するタイプ、すなわちタイプⅢ-C又はⅤ-Aに属する菌株とするのが妥当といえる。そこで本菌は、その形態において気菌糸が直線状ないしは曲線状に長く伸長し又それらがジグザグ状になる場合もみられる点、胞子の形成は気菌糸の分断によって形成される点、菌生菌糸はよく発達し培地によつては断片化がみられる点等の特徴を有することからタイプⅢ-Cのノカ

ルジオラシス (*Nocardiosis*) 属 [*J. Meyer, International Journal of Systematic Bacteriology*, 第 26 卷, 487~493 頁, 1976 年] の性状によく一致する。

ノカルジオラシス属に属する菌種としては、ノカルジオラシスダソニビレイ (*Nocardiosis dassonvillei*) [*J. Meyer, International Journal of Systematic Bacteriology*, 第 26 卷, 487~493 頁, 1976 年]、ノカルジオラシス・シリシゲ (*Nocardiosis syringae*) [*G. P. Gauze, M. A. Sverchnikova, R. S. Ukhelina, G. N. Komarova and V. S. Bashkanov, Antibiotiki*, 第 22 卷, 483~486 頁, 1977 年] 及びノカルジオラシス・アトラ (*Nocardiosis atria*) [*U.S. Pat. 4212944*] の 3 種が知られているが、本

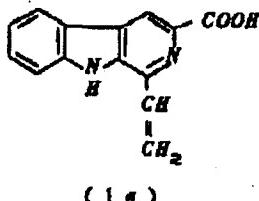
内エキス、カゼイン加水分解物、アンモニウム塩、硝酸塩等を例示でき、炭素源としては、例えはウドウ糖、グリセリン、麦芽糖、デンプン、乳糖、ショ糖、糖蜜等を例示できる。また培地に添加される添加物としては例えは炭酸カルシウム、塩化ナトリウム、硫酸マグネシウム、リン酸等の無機塩を例示でき、更に該培地は必要に応じて、鉄、銅、マンガン、亜鉛等の金属の塩を微量含有してもよい。培養は、上記培養基を含有する通常の水性培地で、表面培養でも深部通気搅拌培養でも実施できるが、深部通気搅拌培養を行うのが好ましい。培養条件は通常の通気条件下に、液性が pH 4.0~9.5、好ましくは pH 6.2~7.7 及び培養温度 12~46℃、好ましくは 28~33℃ で通常 2~4 日間で有利に培養できる。

特開昭57-169481(5)
菌株の気菌糸は白色であり、基生菌糸は特徴ある色調を示さず、可溶性色素は産生しないかあるいはわずかに黄色ないし褐色の色素を産生すること及び糖の同化能はムーラムノース以外よく一致する等の各性状がノカルジオラシス・ダソニビレイの性状と一致する。従つて本菌株はノカルジオラシス・ダソニビレイと同定され得る。

本発明化合物は、上記 OPR 1063 株に限らず、ノカルジオラシス属に属する他の各種の β -カルボリン誘導体生産菌を利用して製造することができる。その製造は具体的には、まず上記微生物を通常の栄養物及び添加物を含有する培地で培養する。培養基として一般に用いられる窒素源としては、例えは木豆粉、大豆油、コーンスタッフリカ、酵母エキス、乾燥酵母、オートミール、

次いで上記培養後に培養液中に生産された物質を採取する。採取法は特に制限されず生産された本発明化合物の理化学的性状を利用した公知の各種方法がいずれも採用できる。例えは不純物との溶解度の差、通常の吸着剤例えは活性炭、XAD-2、シリカゲル、イオン交換樹脂、セファデラクス等に対する吸着親和力の差、二液相間の分配率の差等を利用する方法及び之等方法の組み合わせにより実施できる。より具体的には、培養液を常法に従い汎濾もしくは遠心分離して予め菌体を除去する。汎液をポリスチレン系吸着剤で処理し次いでシリカゲルカラムクロマトグラフに供し、得られる各画分を後述する抗菌活性試験に供し、活性な画分を集め。これより溶媒を留去し残渣を再結晶する。

かくして下記構造式(14)で示される1-ビニル-3-カルボキシ-β-カルボリジンが単離精製される。

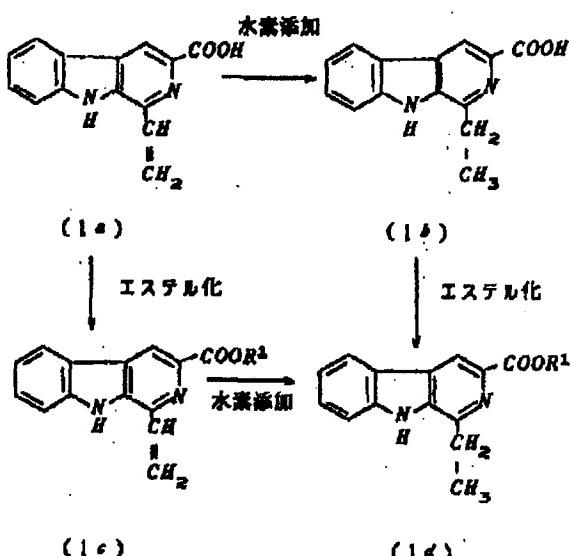


本発明の一般式(1)で示される β -カルボリソ酸
導体のうち、上記式(1a)で示される化合物（以
下化合物(1a)という）以外のものは、該化合物
(1a)を出発原料として下記反応行程式-1に示
す方法に従い製造することができる。

(14) という)に導くことができる。該反応は從来公知の方法、例えば接触還元による方法、還元剤を用いる方法等好ましくは接触還元による方法に準じて実施できる。接触還元による方法に於て、用いられる接触還元触媒としては具体的には白金黒、酸化白金、コロイド白金等の白金触媒、パラ黒、パラジウム炭素、コロイドパラジウム等のパラジウム触媒、ロジウムアルミニナ、石綿付ロジウム等のロジウム触媒、ラネニッケル、酸化ニッケル等のニッケル触媒、ルテニウム触媒等を例示できる。斯かる接触還元触媒の使用量としては特に限定されず広い範囲内で適宜選択し得るが、化合物(1a)に対して通常0.1~50重量%、好ましくは1~20重量%程度用いるのがよい。また該方法に於て用いられる溶媒としては例えば、水、メタノール、エタノール、イソプロパノール、エ

三庫集成

特開昭57-169481(6)



(其中 R^1 为前缀后缀。)

反応行程式-1によれば化合物(1c)を水素添加することにより一般式(1)中 R^2 が水素原子及び R^2 がエチル基である本発明化合物(以下化合物)

チレングリコール等の低級アルコール類、酢酸、
プロピオン酸、酢酸エチル等の低級脂肪酸及びそ
のエステル類、ジエチルエーテル、ジオキサン、
テトラヒドロフラン等のエーテル類等好ましくは
低級アルコール類及び醇類等を挙げることができ
る。該反応は通常常圧～10気圧下に0～100
°C、好ましくは10～50°Cにて行なわれ、一般
には1～10時間程度で反応は終了する。

化合物(1a)をエステル化することにより一般式(1)中R¹が低級アルキル基及びR²がビニル基である本発明化合物(以下化合物(1a)という)を得る。この反応は、常法により化合物(1a)と低級アルコールとを通常のエステル化反応に使用されている触媒の存在にエステル化反応させることにより行なわれる。この際使用される代表的な

触媒としては、例えば塩酸ガス、過硫酸、リン酸、ポリリン酸、三フッ化ホウ素、過塩素酸などの無機酸、トリフロロ酢酸、トリフロロメタンスルホン酸、ナフタレンスルホン酸、メートシル酸、ベンゼンスルホン酸、エタンスルホン酸などの有機酸の他トリフロロメタンスルホン酸無水物などの酸無水物、塩化チオニル、アセトニジメチルエタールなどを例示できる。さらにカチオン交換樹脂も上記触媒として用いることができる。これらの触媒の使用量は通常用いられる範囲のものでよい。上記エステル化反応は無溶媒もしくは溶媒中のいずれでも進行する。用いられる溶媒としては、通常のエステル化反応に使用される各種の溶媒が例えはベンゼン、トルエン、キシレンなどの芳香族炭化水素類、ジクロロメタン、ジクロロエタン、

クロロホルム、四塩化炭素などのハロゲン化炭化水素類、ジエチルエーテル、テトラヒドロフルオル、ジオキサン、エチレングリコールモノメチルエーテルなどのエーテル類を例示できる。化合物(1a)と低級アルコールとの使用割合は、広い範囲にわたり適宜に選択すればよいが、目的物の生成率を良好にするためには、通常無溶媒の場合には前者に対し後者を大過剰、また溶媒を用いる場合には前者に対し後者を等モル～5倍モル（とくに好ましくは等モル～2倍）用いるのが好ましい。なお、このエステル化反応においては、無水塩化カルシウム、無水硫酸銅、無水硫酸カルシウム、五酸化リンなどの乾燥剤を用いて生成水を反応系から除去することにより、さらに生成率を増大させることも可能である。反応温度は適宜選択す

れよく、通常約-20～200°C程度の範囲、とくに約0～150°C程度の範囲で行なうのが好ましい。また反応時間は一般に約10分～20時間程度である。

又、上記エステル化反応は、化合物(1a)のカルボキシ基の活性化された誘導体、例えはカルボン酸ハライド、カルボン酸無水物などを用いても行なうことができる。

さらに上記エステル化反応において、目的とする化合物がメチルエステルである場合には、化合物(1a)をジアゾメタンと反応させることによつても目的物を得ることができる。この化合物(1a)とジアゾメタンとの反応は、前記のエステル化反応において用いられたと同一の溶媒を使用して、通常-5～20°C好ましくは0～10°C程度

で5分～1時間程度で行なうことができる。この際化合物(1a)とジアゾメタン（通常エーテル、ジクロロメタン等の溶媒として使用する）との使用割合は、通常前者に対して後者を1～2倍モル、好ましくは1～1.5倍モル程度用いるのがよい。

かくして得られる化合物(1a)は、常法によりエステル交換することができる。該エステルの交換反応は、目的とするエステルに対応する金属アルコラートを用いて容易に行なうことができる。エステル交換反応には前記のエステル化反応に用いられたと同様の溶媒を使用でき、反応させる金属アルコラートに対応した低級アルコールを用いるのが好ましい。原料化合物と金属アルコラートとの使用割合は、広い範囲にわたり適宜に選択されるが、目的物の生成率を良好にするために通常

前者に対して後者を等モル～2倍モル、好ましくは等モル～2倍モル量程度用いるのがよい。反応温度及び反応時間は前記化合物(1a)のエステル化反応と同様の反応条件を採用できる。

上記により得られる化合物(1a)は、これをエステル化することにより、また上記により得られる化合物(1a)は、これを水素添加することにより、夫々一般式(I)中 R_1^2 が低級アルキル基及び R^2 がエテル基である本発明化合物(以下化合物(1d)という)に導くことができる。上記化合物(1a)をエステル化する反応及び化合物(1a)を水素添加する反応は、夫々前記の化合物(1a)のエステル化及び水素添加と同様にして行なうことができる。

かくして得られる本発明の一般式(I)で表わされ

る β -カルボリソ誘導体のうち酸性基を有する化合物は、塩基性化合物と反応して容易に塩を形成し得るものであり、本発明はこの β -カルボリソ誘導体の塩をも包含する。

上記塩基性化合物としては、具体的には、水酸化ナトリウム、水酸化カリウム、水酸化カルシウム、炭酸ナトリウム、炭酸カリウム、炭酸水素ナトリウム等のアルカリ金属又はアルカリ土類金属の水酸化物、炭酸化物等を例示できる。また例えばメチルアミン、エチルアミン、イソプロピルアミン、モルホリン、ピペラジン、ビペラジン、3,4-ジメトキシフェネチルアミン等の有機アミン類も上記塩基性化合物として利用できる。之等塩基性化合物による塩形成反応は、通常の塩形成反応に従い適当な溶媒中で容易に実施できる。用

いられる溶媒としては、水、メタノール、エタノール、プロパンノール等の低級アルコール類、ジオキサン、テトラヒドロフラン等のエーテル類、アセトン、ベンゼン、酢酸エチル、ジメチルスルホキシド、ジメチルホルムアミド、塩化メチレン、クロロホルム等を例示できる。上記反応は、通常大気中又は無酸素条件下好ましくは例えば窒素、アルゴン等の不活性ガス雰囲気下に、室温～100℃好ましくは室温～50℃の温度条件下に、約5分～6時間で実施される。塩基性化合物の使用量は、特に制限はないが、通常出発原料とする化合物の酸性基に対して当量以上好ましくは1～2当量とするのがよい。

上記した各工程の反応終了後目的とする化合物は、通常公知の分離手段により容易に単離精製で

きる。該分離手段としては例えば溶媒留去、溶媒抽出、沈殿、再結晶、カラムクロマトグラフィー、プレパラティクロマトグラフィー等を任意に採用できる。

かくして得られる本発明の一般式(I)で表わされる β -カルボリソ誘導体及びその塩は、之を例えは抗腫瘍剤等の医薬用薬剤として用いるに当り、通常製剤的担体と共に製剤組成物の形態とされる。担体としては使用形態に応じた薬剤を調製するのに通常使用される充填剤、增量剤、結合剤、付湿剤、崩壊剤、表面活性剤、滑潤剤等の基剤あるいは賦形剤を例示できる。

薬剤の投与単位形態としては各種の形態を治療目的に応じて選択でき、その代表的なものとして錠剤、丸剤、散剤、液剤、懸濁剤、乳剤、顆粒剤、

特開昭57-169481(9)

カプセル剤、坐剤、注射剤（液剤、懸濁剤等）等を表示できる。錠剤の形態に成形するに際しては、組体として例えば乳糖、白糖、塩化ナトリウム、ブドウ糖液果素、デンプン、炭酸カルシウム、カオリン、結晶セルロース、ケイ酸等の賦形剤、水、エタノール、プロパンノール、单シロップ、ブドウ糖、デンプン液、ゼラチン溶液、カルボキシメチルセルロース、セラック、メチルセルロース、リソ酸カリウム、ポリビニルビロリドン等の結合剤、乾燥デンプン、アルギン酸ナトリウム、炭酸カルシウム、ツウイン、ラウリル硫酸ナトリウム、炭酸カルシウム、ツウイン、ラウリル硫酸ナトリウム、ステアリック酸モノグリセリド、デンプン、乳糖等の崩壊剤、白糖、ステアリン、カカオバター、水添加油等の崩壊抑制剤、第四級アンモニウム複

基、ラウリル硫酸ナトリウム等の吸収促進剤、グリセリン、デンプン等の保湿剤、デンプン、乳糖、カオリン、ベントナイト、コロイド状ケイ酸等の吸着剤、精製タルク、ステアリン酸塩、木りんご末、マクロゴール、固体ポリエチレングリコール等の滑潤剤等を使用できる。丸剤の形態に成形するに際しては、組体として例えばブドウ糖、乳糖、デンプン、カカオ脂、硬化植物油、カオリン、タルク等の賦形剤、アラビアゴム末、トライカット末、ゼラチン、エタノール等の結合剤、ラミナリア、カントン等の崩壊剤等を使用できる。更に錠剤は必要に応じ通常の薄皮を施した錠剤例えば糖衣錠、ゼラチン被包錠、腸溶被包錠、フィルムコーティング錠あるいは二重錠、多層錠とすることができます。坐剤の形態に成形するに際しては、組体として例

えばポリエチレングリコール、カカオ脂、高級アルコールのエステル類、ゼラチン、半合成グリセライド等を使用できる。注射剤として調製される場合には液剤及び懸濁剤は、殺菌され且つ血液と等張であるのが好ましく、これら液剤、乳剤及び懸濁剤の形態に成形するに際しては、稀釈剤として例えば水、エチルアルコール、プロピレングリコール、エトキシ化イソステアリルアルコール、ポリオキシ化イソステアリルアルコール、ポリオキシエチレンソルビット、ソルビタンエステル等を使用できる。なおこの場合等張性の溶液を調製するに充分な量の食塩、ブドウ糖あるいはグリセリンを薬剤中に含有せしめてもよく、また通常の溶解補助剤、緩衝剤、無害化剤、保存剤等を、更に必要に応じて着色剤、保存剤、香料、風味剤、

甘味剤等他の医薬品を、該薬剤中に含有せしめてもよい。

薬剤中に含有されるべき本発明化合物の量は特に規定されず広範囲に適宜選択されるが、通常全組成物中1~70質量%、好ましくは5~50質量%とするのがよい。

上記薬剤は、その使用に際し特に制限はなく各種形態に応じた方法で投与される。例えば錠剤、丸剤、液剤、懸濁剤、乳剤、顆粒剤及びカプセル剤の場合には経口投与される。また注射剤の場合には単独あるいはブドウ糖、アミノ酸等の通常の補液と混合して静脈内投与され、さらには必要に応じて単独で筋肉内、皮内、皮下若しくは腹腔内投与される。坐剤の場合には直腸内投与される。

薬剤の投与量は使用目的、症状等により適宜選

採されるが、通常本発明化合物の投与量を1日当たり0.5～3.0mg/kg程度の範囲とするのが好ましい。

かくして本発明化合物を有効成分とする薬剤は、抗腫瘍としてまた抗ガン剤、抗炎症剤として有用である。

以下本発明化合物の薬理試験結果を示す。

〔抗菌力試験〕

種々の菌(細菌及び真菌)に対する本発明化合物(1-ビニル-3-カルボキシ-β-カルボリン)の抗菌作用を寒天希釈平板法により求めた。試験結果を最小発育阻止濃度(MIC, μg/ml)にて、下記第3表に示す。尚細菌の場合には、ハートインキュベーション培地(栄研化学社製)で37℃で18時間インキュベーションし、また真菌の場

特開昭57-169481(10)
合はパレイショ・フドウ糖寒天培地(日本製薬社製)で28℃、48時間インキュベーションした。

第3表

供試菌名	供試菌名	MIC (μg/ml)
1	スタフロコッカス オーレウス <i>FDA209P</i> (<i>Staphylococcus aureus</i>)	25
2	バチルス ツブチリス <i>PCI-219</i> (<i>Bacillus subtilis</i>)	12.5
3	バチルス アントラシス (<i>Bacillus anthracis</i>)	25
4	バチルス セレウス <i>ATCC 11778</i> (<i>Bacillus cereus</i>)	12.5
5	バチルス プミラス <i>IFO 3813</i> (<i>Bacillus pumilus</i>)	25
6	バチルス サーキュラス <i>ATCC 8241</i> (<i>Bacillus circulans</i>)	50

供試菌名	供試菌名	MIC (μg/ml)
7	ストレプトコッカス ピオガネス <i>IID S-23</i> (<i>Streptococcus pyogenes</i>)	100
8	エシエリヒア コリ <i>NHEJJC-2</i> (<i>Escherichia coli</i>)	>200
9	プロテウス レットゲリ <i>NTU 96</i> (<i>Proteus rettgeri</i>)	100
10	サルモネラ トリジー O-901 <i>NCTC8393</i> (<i>Salmonella typhi</i>)	200
11	シゲラ ゾンネイ <i>ZW-33</i> (<i>Shigella sonnei</i>)	>200
12	セラチア マレセツセンス <i>IFO 12648</i> (<i>Serratia marcescens</i>)	>200
13	クレブジラ ニューモニア <i>IFO 3512</i> (<i>Klebsiella pneumoniae</i>)	>200
14	ピードモナス エルモニサ <i>ATCC 10145</i> (<i>Pseudomonas aeruginosa</i>)	>200

供試菌名	供試菌名	MIC (μg/ml)
15	ビリキュラリア オリゼー (<i>Pericularia oryzae</i>)	50
16	スクレロテニア スクレロテオルム (<i>Sclerotinia sclerotiorum</i>)	50
17	フィトワイトラ キヤブシツシー (<i>Phytophthora capsici</i>)	12.5
18	コルチシウム ササキ (<i>Corticium sasakii</i>)	100

上記第3表より、本発明化合物は各種のグラム陽性菌、グラム陰性菌及び真菌類に対して抗菌作用を有することが明らかである。

〔KB細胞に対する細胞毒性試験〕

試験に供したヒト鼻咽頭ガン由來のKB細胞は、1.0%子牛血清含有イーグルMEM培地(日本製

特開昭57-169481(11)

（株）で培養した。即ち直徑 1.5 mm 及び長径 1.50 mm のガラス製試験管に、上記培地 1 ml、細胞浮遊液 0.1 ml 及び本発明化合物（1-ビニル-3-カルボキシ-β-カルボリン）のジメチルスルホキシド（DMSO）溶液 0.1 ml を入れ、斜面型試験管立を用いて培養した。

対照群として、上記において本発明化合物に替え、マイトイシン C（協和薬業社製）の生理食塩水溶液 0.1 ml を用い同様にした。試験群及び対照群は各濃度で夫々 3 本ずつ試験した。

培養は CO_2 -インキュベーター（5% 二酸化炭素気流）、を用い 37°C で 72 時間行なつた。

試験後蛋白量を、オヤマ及びイーグル（Ogawa and Eagle）の方法 [Proc. Soc. Exp. Biol. Med., 91, 305~307 (1956)] に準じ、フォリッジ

シオカルデュ試薬 (Folin-Ciocalteu reagent) を用いて定量した。また蛋白合成の阻害率は、試験開始時の蛋白量を C_0 、試験終了時の蛋白量を T （薬剤投与群）及び C （薬剤を含まない培養単独投与によるコントロール群）として、下式により算出した。尚上記 C_0 はいずれも 2.2.1 $\mu\text{g}/\text{試験管}$ であつた。

$$\text{阻害率} (\%) = \frac{C - T}{C - C_0} \times 100$$

また 50% 阻害濃度 (ID_{50}) は、対数濃度反応曲線により求めた。結果を第 4 表に示す。

第 4 表

	薬剤濃度 ($\mu\text{g}/\text{ml}$)	試験後蛋白量 ($\mu\text{g}/\text{試験管}$)	阻害率 (%)	ID_{50} ($\mu\text{g}/\text{ml}$)
本発明化 合物試験 群	1	57.2	57.6	0.86
	0.5	85.4	23.7	
	0.25	96.1	10.8	
	0	105.1	0	
対照群	0.0125	35.9	78.8	0.0056
	0.0031	70.0	26.8	
	0	87.6	0	

以下本発明化合物の製造例を実施例として示す。

実施例 1

500 ml 容三角フラスコに 100 ml の下記組成の培地を入れこの培地中でノカルジオブシス・タツシビレイ OFR 1.063 株を 30°C, pH 7.0 で 3 日間回転振とう培養を行なう。

<培地組成>

スタート 30 g/l

ブドウ糖	5	%
トリプトファン S	10	%
$MgSO_4 \cdot 7H_2O$	0.5	%
KH_2PO_4	0.02	%
Na_2HPO_4	0.05	%
$CaCl_2 \cdot 6H_2O$	1	g/l
$FeSO_4 \cdot 7H_2O$	1	%
$MnCl_2 \cdot 4H_2O$	1	%
$ZnSO_4 \cdot 7H_2O$	1	%

上記で得られた種培養 25 ml を、500 ml の上記組成の培地を入れた 2 l 容の板口フラスコ中で培養温度 30°C で 2 日間回転振とう培養を行なう。この前培養 8 l を、600 l の前記組成の培地を入れた 1 t 容タンクで培養温度 30°C、通気量

600 rpm、攪拌数120回転/分で64時間培養を行なう。

得られた培養液を3000回転/分で遠心分離し菌体を除去し、この上澄液を「ダイヤイオン HP-20」(三共化成社製)50mlを充てんしたカラムにチャージして、水洗後100mlの時計工具で溶出し、溶出液を濃縮して褐色濁度210を得る。この濁度80%をシリカゲル800gのカラムクロマトに付しクロロホルム:メタノール=10:1で展開し、Rf 1~Rf 3.3の各200mlのフラクションを得る。次いでクロロホルム:メタノール=5:1で展開して、Rf 3.4~Rf 5.1の各200mlのフラクションを得る。

各フラクションの抗菌活性を試験しRf 1.7~Rf 3.7に活性を認める。Rf 1.7~Rf 3.7のフラクシ

特開昭57-169481(12)
ヨンを合一し、濃縮して結晶化する。これを沪取して3.23gの粗結晶を得る。粗結晶500mgをメタノール-アセトニトリルより再結晶して、黄色柱状晶の抗菌活性物質1-ビニル-3-カルボキシ-β-カルボリン250mgを得る。この化合物の生成は以下の理化学的特性より確認される。

Rf 値(シリカゲル薄層クロマトグラフィー)

0.56(メタノール:酢酸:水=4:1:1)
0.60(メタノール:2N-アンモニア=7:3)

融点

254~256°C(分解)

ドライゲッドルフ試験

陽性(赤褐色)

プロムクレリールグリーン試験

陽性(黄色)

溶解性

ジメチルスルホキシド、ジメチルホルムアミド、アルカリ水に可溶であり、メタノール、エタノール、テトラヒドロフランに難溶であり、水、クロロホルム、エーテル、ジオキサンに不溶である。

元素分析値(C₁₄H₁₀N₂O₂として)

C H N

計算値(%) 70.58 4.23 11.76

分析値(%) 70.36 4.46 11.86

UVスペクトル

λ_{max}^{EtOH} =225 nm(s, k, ε=19700)

281 nm(ε=41300)、358 nm(ε=6970)、365 nm(s, k, ε=6500)

IRスペクトル

ν_{max} = 3200, 3050, 3000, 2900, 2850,
1710, 1620, 1580, 1500, 1455,
1360, 1310, 1250, 1140, 1105,
1070, 995, 955, 895, 815, 795,
740, 655, 595, 545, 500 cm⁻¹

NMRスペクトル

$\delta_{ppm}^{DMSO-d_6}$ = 12.23(1H, s, t),
8.86(1H, s), 8.39(1H, d, J=7.6Hz),
7.69(1H, d, J=7.6Hz),
7.61(1H, t, J=7.6Hz),
7.48(1H, dd, J=16.9, 10.6Hz),
7.31(1H, t, J=7.6Hz), 6.71(1H,
d, J=16.9, 1.2Hz), 5.73(1H,
d, J=10.6, 1.2Hz)

実施例 2

1-ビニル-3-カルボキシ- β -カルボリジン30号をメタノール20mlに溶解し、10gバラジウム炭素15号を加え常圧で1時間接触還元を行なう。反応溶液より濁液を除去し、清液を留去して残渣28号を得る。これをメタノール-テセトニトリルより再結晶して淡黄緑色柱状晶の1-エチル-3-カルボキシ- β -カルボリジン18号を得る。

融点 270~272°C (分解)

実施例 3

1-ビニル-3-カルボキシ- β -カルボリジン400号をメタノール15mlに懸濁し、氷水中で冷却(0°C)しながらジアツメタンのエーテル溶液を搅拌下に反応溶液から気泡が発生しなくなる

特開昭57-169481(13)
まで添加する。濁液を留去して黄褐色の残渣を得る。この残渣をシリカゲル10gのクロマトに付しベンゼン-酢酸エチル=2:1で展開し、3mlずつのフラクションを取り、フラクションNo.4~No.10を合一し、清液を留去して粗結晶340号を得る。ベンゼン-酢酸エチルより再結晶して微黄色針状晶の1-ビニル-3-メトキルカルボニル- β -カルボリジン65号を得る。

融点 213~215°C (分解)

実施例 4

実施例3と同様にして1-エチル-3-カルボキシ- β -カルボリジンより1-エチル-3-メトキシカルボニル- β -カルボリジンを得る。

微黄色柱状晶 (ベンゼン-酢酸エチル)

融点 223~225°C

実施例 5

1-ビニル-3-メトキシカルボニル- β -カルボリジン325号をエタノール14mlに懸濁し、氷水中で冷却しながらナトリウムエテラート90mgをエタノール2mlに溶かした溶液を搅拌下に滴下する。室温に戻し1時間搅拌する。反応溶液より濁液を留去し得られた残渣をシリカゲル8gのクロマトに付し、ベンゼン-酢酸エチル=3:1で展開する。5mlずつフラクションを取り、フラクションNo.4と5を合一し、清液を留去して粗結晶210号を得る。ベンゼン-酢酸エチルより再結晶して微黄色針状晶の1-ビニル-3-エトキシカルボニル- β -カルボリジン54号を得る。

融点 198~220°C (分解)

実施例 6

実施例5と同様にして1-エチル-3-メトキシカルボニル- β -カルボリジンより1-エチル-3-エトキシカルボニル- β -カルボリジンを得る。

微黄色針状晶 (エタノール)

融点 208~210°C

以下本発明化合物を有効成分とする製剤調製例を挙げる。

製剤例 1

1-ビニル-3-カルボキシ- β -カルボリジンのナトリウム塩 200mg

ブドウ糖 250mg

注射用蒸留水 適量

全量 5ml

注射用蒸留水に本発明化合物及びブドウ糖を溶解させた後5mlのアンプルに注入する。直素で置

後 121℃で15分間加圧滅菌を行ない注射を得る。

調剤例 2

1-エチル-3-メトキシカルボニル -β-カルボリン	100%
アビシェル(商標名、硬化成形樹)	40%
コンスター	30%
ステアリン酸マグネシウム	2%
TC-5(商標名、ヒドロキシプロピル メチルセルロース)	10%
ポリエチレングリコール-6000	3%
ヒマシ油	40%
メタノール	40%

本発明化合物アビシェル、コンスター及びステアリン酸マグネシウムを取り混合研磨後糊衣 R 10mmのキネで打継する。得られた調剤を TC-

特開昭57-169481(14)

5、ポリエチレングリコール-6000、ヒマシ油及びメタノールからなるフィルムコーティング剤で被覆を行ないフィルムコーティング錠を製造する。

調剤例 3

1-ビニル-3-メトキシカルボニル -β-カルボリン	100%
アビシェル	40%
コンスター	30%
ステアリン酸マグネシウム	2%
アクリル酸メチル-メタクリル酸共重合体	5.7%
トリニアセチン	0.6%
エタノール	50.4%

本発明化合物、アビシェル、コンスター及びステアリン酸マグネシウムを取り混合研磨後糊衣

R 10mmのキネで打継する。得られた調剤をアクリル酸メチル-メタクリル酸共重合体、トリニアセチン及びエタノールからなるフィルムコーティング剤で被覆を行ない腸溶錠を製造する。

(以上)

代理人弁理士三枝英二

